

장내 미생물 개선효과가 있는 약용식물소재 탐색

조인숙* · 한영희*[†] · 이지영* · 박경열*

경기도농업기술원

Search for Medicinal Plants on Improvable Effect of Intestinal Microflora

In Sook Cho*, Young Hee Han*[†], Gee Young Lee*, and Kyeong Yeol Park*

*Gyeonggi-Do Agricultural and Extension Services, Gyeonggi-Do, 445-972. Korea.

ABSTRACT : Extracts of 13 medicinal plants were tested to investigate the improvable effects on microflora growth in the intestines of human. Water extracts of *Artemisia capillaris*, *Taraxacum platycarpum* and Ethanol extracts of *Allium tuberosum*, *Artemisia capillaris*, *Artemisia vulgaris*, *Plantago asiatica*, *Schizandra chinensis*, *Sedum sarmentosum*, *Taraxacum platycarpum*, *Zingiber officinale* inhibited the growth of *C. perfringens*. Water and ethanol extracts of *Sedum sarmentosum*, *Schizandra chinensis* inhibited the growth of *E. coli*. While 13 medicinal plants were not remarkably inhibited the growth of *B. longum*. Therefore, ethanol extracts of *Schizandra chinensis*, *Sedum sarmentosum* can be utilized as functional food materials to improve in the intestines.

Key Words : Intestinal Microflora, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Bifidobacterium longum*

서 언

포유동물의 장내에는 숙주의 면역능력을 자극하거나 감염을 방어하고 노화방지 및 건강유지에 기여하는 세균류와 장내 부패를 일으키거나 독소, 발암물질 등을 생성해서 숙주의 노화 촉진 및 발암 등에 관여하여 유해하게 작용하는 세균류가 같이 존재한다 (Gibson & Roberfroid, 1995).

건강한 성인의 장내 균총은 *Bacterioides*가 약 60%, *Bifidobacteria*와 *Lactobacilli*가 약 40%, *E. coli*와 *Streptococcus*가 각각 1%, 그리고 *Clostridium*이 1% 이하로 구성되어 있다고 보고되고 있다 (本間道,와 光岡知足, 1979). 그중 장내 유해작용을 하는 세균으로는 *C. perfringens*, *E. coli*, *S. aureus*, *Proteus* 등이 알려져 있으며, 특히 *C. perfringens*는 각종 독소와 발암관련 물질을 생성하며 노년기에 접어들면서 급격히 증가하는 대표적 유해균으로 알려져 있다 (Smith, 1979). 건강하게 장수하려면 *Bifidobacterium* 등의 유익균이 많아야 하는 반면 *C. perfringens* 등의 유해균이 적은 상태로 장내 균총을 유지시켜야 한다 (Mitsuoka, 1989). 한약재와 식물은 오래전부터 소화기계에 많이 사용되어지고 있고 해독작용과 항균작용을 하는 것으로 알려지고 있다. Kim *et al.* (2002)은 천연식물의 단독 또는 몇 가지 조합처리에서 *C. perfringens*의 생육

억제하고 *B. bifidum*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*에 성장을 촉진한다고 보고하였고, 신현경 (1994)은 국내자생 산채류 또는 산야초에서 *C. perfringens*와 *E. coli*를 억제하는 식물과 *B. longum*을 생육 촉진하는 식물을 선발하여 장내균총 개선 가능성이 있다고 하였고, 한약재인 목통 (Han *et al.*,1995), 뽕잎 (Lee *et al.*, 2000, 2001)이 *C. perfringens*의 생육억제에 강한 활성이 있다고 보고하였다. 따라서 본 연구는 식물자원으로부터 정장제품을 개발하기 위해 식물추출물이 장내 유해균인 *C. perfringens*, *E. coli*의 생육을 저해시키면서 유익균인 *B. longum*의 생육을 증진시키는 식물소재들을 *in vitro* 상에서 탐색하여 장내미생물 개선 효과가 있는 식물을 선발하고자 수행하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 식물 추출방법

실험재료는 동의보감, 본초강목, 현대한방강좌 등의 고서에 수록된 소화기계에 많이 사용되어지고 해독작용 및 항균작용 효능을 가진 대파, 들나물, 마늘, 민들레, 부추, 생강, 쑥, 신선초, 양파, 오미자, 인진쑥, 쪽파, 질경이 등 13 작물을 사용하였다.

[†]Corresponding author: (Phone) +82-31-229-5811 (E-mail) yhhanh@hanmail.net
Received August 16, 2006 / Accepted January 31, 2007

Table 1. Extraction percentage extracted from flora by solvents.

Flora	Extraction percentage		Flora	Extraction percentage	
	Water extract	Ethanol extract		Water extract	Ethanol extract
<i>Allium tuberosum</i>	36.4	30.4	<i>Artemisia vulgaris</i>	25.0	15.4
<i>Allium cepa</i>	61.1	52.9	<i>Plantago asiatica</i>	19.8	10.3
<i>Artemisia capillaris</i>	19.0	11.9	<i>Schizandra chinensis</i>	38.9	26.8
<i>Angelica keiskei</i>	43.3	33.9	<i>Sedum sarmentosum</i>	46.8	27.8
<i>Allium fistulosum</i>	50.8	45.5	<i>Taraxacum platycarpum</i>	22.9	8.9
<i>Allium ascalonicum</i>	37.3	32.0	<i>Zingiber officinale</i>	14.2	9.4
<i>Allium sativum</i>	65.9	12.2	-	-	-

각 작물의 식물체는 세절하여 냉동 (-80℃) 보관 후 동결 건조시켜 시료로 사용하였으며 추출용매는 물과 에탄올을 사용하였다. 물 추출은 건시료 20 g을 물 100 ml에 넣어 1시간 동안 열수 추출하였고, 에탄올 추출은 건시료 20 g을 80% 에탄올 100 ml에 넣어 실온에서 24시간 추출하여 추출여액을 감압농축 (Buchii, 독일) 후 동결건조 (바이오크라이오스, 한국) 하여 사용하였다. 추출수율은 농축플라스크에 추출물 일정량을 취하여 감압농축하고 동결 건조시킨 후 건물량에 대한 백분율로써 총 추출수율(%)을 구하였다.

2. 사용균주 및 배양

사용한 균주는 장내 유익균으로 *Bifidobacterium longum* KCTC3128를, 병원성 및 유해균으로는 *Clostridium perfringens* KCTC3269, *Escherichia coli* KCCM21052를 선정하였다. 균주의 성장에 필요한 배지로 *B. longum*는 Lactobacilli MRS Broth (Difco사, 미국)에 아미노산을 혼합한 배지 (Lactobacilli MRS Broth 55 g, Cystein 0.5 g, Na₂CO₃ 0.2 g, CaCl₂ 0.1 g, DW 1000 ml)를 사용하였고, *C. perfringens*는 RCM 배지 (Difco사, 미국)를, *E. coli*는 Nutrient 배지 (Difco사, 미국)를 사용하였다. *B. longum*과 *C. perfringens*는 10% CO₂, 37℃에서 이틀 동안 정치 배양하였고, *E. coli*는 37℃에서 180 rpm으로 교반하면서 배양하였다.

3. 항균활성 측정

식물추출물이 1000 mg · L⁻¹과 500 mg · L⁻¹ 첨가된 배양액에 장내세균(OD 0.1) 100 μl를 접종하고 37℃에서 48시간 동안 배양한 후 균 생육정도를 스펙트로포토메타 (Human corporation, 한국) 600 nm에서 OD (optical density)로 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 추출수율

추출용매인 물, 80% 에탄올의 추출수율은 Table 1과 같다. 물로 추출하였을 때의 추출수율은 마늘에서 가장 높았고, 양

Table 2. Effect of 1000 mg · L⁻¹ flora extracts extracted by solvents on growth of *Clostridium perfringens* in intestinal microflora.

Flora	Water extract	Ethanol extract
<i>Allium ascalonicum</i>	- [†]	-
<i>Allium cepa</i>	-	-
<i>Allium fistulosum</i>	-	-
<i>Allium sativum</i>	-	-
<i>Allium tuberosum</i>	-	+++
<i>Angelica keiskei</i>	-	-
<i>Artemisia capillaris</i>	+++	+++
<i>Artemisia vulgaris</i>	-	+++
<i>Plantago asiatica</i>	-	+++
<i>Schizandra chinensis</i>	-	+++
<i>Sedum sarmentosum</i>	-	+++
<i>Taraxacum platycarpum</i>	+++	+++
<i>Zingiber officinale</i>	-	+++

†-; no growth delay, +; growth delay for 24 hours, +++; growth delay for 48 hours.

파, 대파 순으로 높았다. 80% 에탄올로 추출하였을 때 추출수율은 양파에서 가장 높았고 그 다음은 대파, 신선초 순으로 높았다.

이러한 결과는 추출식물과 용매의 성질에 따라 용출되어지는 물질의 성분이 다르기 때문에 추출수율의 차이가 있는 것으로 생각된다.

2. 장내세균에 대한 식물소재 탐색

*C. perfringens*는 간균, 혐기성균으로서 독소를 생성하고 침식성 근육을 괴사시키고 복통, 설사, 구토 등의 식중독을 일으키고 여러 가지 독소들에 의해서 치매를 일으키는 대표적인 유해성 장내세균으로 알려져 있다. 13종 식물의 추출용매별 *C. perfringens*의 생육억제에 미치는 영향을 시험한 결과는 Table 2와 같다. 물 추출물은 민들레, 인진쑥에서, 에탄올 추출물은 돌나물, 민들레, 부추, 생강, 쑥, 인진쑥, 질경이에서 48시간 동안 강하게 생육이 억제되었다. 이와 같이 물보다 에탄올 추출물이 생육이 억제되는 식물이 많았다.

Table 3. Effect of 1000 mg·L⁻¹ flora extracts extracted by solvents on growth of *E. coli* in intestinal microflora.

Flora	Water extract	Ethanol extract
<i>Allium ascalonicum</i>	- [†]	-
<i>Allium cepa</i>	-	-
<i>Allium fistulosum</i>	-	-
<i>Allium sativum</i>	-	-
<i>Allium tuberosum</i>	-	-
<i>Angelica keiskei</i>	-	-
<i>Artemisia capillaris</i>	-	-
<i>Artemisia vulgaris</i>	-	-
<i>Plantago asiatica</i>	-	-
<i>Schizandra chinensis</i>	+++	+++
<i>Sedum sarmentosum</i>	+++	+++
<i>Taraxacum platycarpum</i>	-	-
<i>Zingiber officinale</i>	-	-

†-; no growth delay, +; growth delay for 24 hours, +++; growth delay for 48 hours.

*C. perfringens*의 생육억제는 백작약, 백출, 음양곽, 석창포, 오미자, 황기 및 황련 등의 식물 조합이 증가할수록 제어율이 높다고 하였고 (Kim, 2002), 또한 돌미나리, 쑥 추출물 (신현경, 1994)이 억제활성을 보였다. 본 시험에서도 식물의 단용 추출물에서 같은 경향을 보였다.

식물의 용매별 추출물을 이용하여 *E. coli*의 생육억제에 미치는 영향을 시험한 결과는 Table 3과 같다. 돌나물, 오미자에서 물과 에탄올 추출물 모두 48시간 동안 강하게 생육이 억제되었다.

한편 유익한 세균인 *B. longum*에 대해 생육에 미치는 영향을 시험한 결과는 Table 4에서 보는 바와 같이 모든 식물 추출물에서 생육억제가 되지 않았다. 이는 머위, 쑥, 원추리 황새냉이가 *B. longum*의 생육을 촉진시켜주는 활성을 보고한 바와 같이 (신현경, 1994) 시험된 식물 모두에서 억제효과를 보이지 않았다.

Table 2와 3에서 1차 시험하여 억제 효과를 가진 선발된 추출물을 가지고 낮은 농도에서 2차 시험한 결과는 Table 5와 같다. *C. perfringens*는 민들레, 생강, 인진쑥, 질경이 에탄올추출물에서, *E. coli*는 오미자 에탄올추출물에서 24시간 동안 생

Table 4. Effect of 1000 mg·L⁻¹ flora extracts extracted by solvents on growth of *B. longum* in intestinal microflora.

Flora	Water extract	Ethanol extract
<i>Allium ascalonicum</i>	- [†]	-
<i>Allium cepa</i>	-	-
<i>Allium fistulosum</i>	-	-
<i>Allium sativum</i>	-	-
<i>Allium tuberosum</i>	-	-
<i>Angelica keiskei</i>	-	-
<i>Artemisia capillaris</i>	-	-
<i>Artemisia vulgaris</i>	-	-
<i>Plantago asiatica</i>	-	-
<i>Schizandra chinensis</i>	-	-
<i>Sedum sarmentosum</i>	-	-
<i>Taraxacum platycarpum</i>	-	-
<i>Zingiber officinale</i>	-	-

†-; no growth delay, +; growth delay for 24 hours, +++; growth delay for 48 hours.

육이 억제되었으나 그 이후로는 억제효과를 보이지 않았다. 반면 *B. longum*는 생육억제보다 오히려 약간의 생육 증진되는 경향을 보였다.

Han *et al.* (1995)은 한약재 중 목통의 물 추출물은 *C. perfringens*의 생육을 강한 저해시키는 활성을 나타냈으나 유익균인 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus* 균에 대해서도 생육저해효과가 전혀 없었으며 유해균인 *E. coli*와 *Enterococcus faecalis*의 생육에도 별 영향이 없다고 하였다. 한편 신현경 (1994)은 쑥, 머위, 원추리, 황새냉이 물 추출물을 *in vitro* 평가실험에서 유해균인 *C. perfringens*과 *E. coli*의 생육을 억제시키고 유익균인 *Bifidus*와 *Lactobacillus* 균을 증식시키는 결과를 얻었다고 하였다.

결론적으로 추출물 500 mg·L⁻¹ 농도에서는 유해균인 *C. perfringens*와 *E. coli*의 생육억제능력이 지속적이지 못하였으므로 정장제품의 소재로 이용할 수 없으며 1000 mg·L⁻¹ 농도에서의 돌나물, 오미자 에탄올추출물이 *C. perfringens*과 *E. coli*의 생육을 억제시키면서 유익균인 *B. longum*에는 생육에 영향을 미치지 않아 정장제품으로의 개발 가능성을 보였다.

Table 5. Effect of 500 mg·L⁻¹ flora extracts extracted by solvents on growth of intestinal microflora.

Intestinal Microflora	Water extract			Ethanol extract								
	A.ca. [†]	S.c.	T.p.	A.t.	A.ca	A.v.	Pa.	S.c.	S.s	T.p.	Z.o.	
<i>C. perfringens</i>	- [†]	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
<i>B. longum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

†-; no growth delay, +; growth delay for 24 hours, +++; growth delay for 48 hours.

#Abbreviation; A.t. : *Allium tuberosum*, A.ca. : *Artemisia capillaris*, A.v. : *Artemisia vulgaris*, Pa : *Plantago asiatica*, S.c. : *Schizandra chinensis*, S.s. : *Sedum sarmentosum*, T.p. : *Taraxacum platycarpum*, Z.o. : *Zingiber officinale*.

적 요

장내미생물 개선에 효과가 있는 약용식물소재들을 탐색하여 정장제품 개발하고자 13종의 식물을 물과 에탄올로 각각 추출하여 농도별로 유해균인 *C. perfringens*, *E. coli*와 유익균인 *B. longum*의 생육에 미치는 영향을 *in vitro* 실험으로 시험한 결과는 아래와 같다.

가. *C. perfringens*은 민들레와 인진쑥 물 추출물에, 돌나물, 오미자, 민들레, 부추, 생강, 쑥, 인진쑥, 질경이 에탄올추출물에 강하게 생육억제 되었다.

나. *E. coli*은 돌나물, 오미자 물과 에탄올 추출물에서 강하게 생육억제 되었다.

다. *B. longum*은 추출용매에 관계없이 생육에는 크게 영향을 주지 않았다.

라. 돌나물과 오미자 에탄올추출물이 유익균에 생육억제 없이, 두 유해균을 억제됨으로서 이들 소재가 정장제품으로의 개발 가능성이 있다고 생각되었다.

LITERATURE CITED

- Choi SS, Ha NJ** (1999) Fecal microflora of mice in relation to diet. Korean J. Micro. 35:128-132.
- Gibson GR, Roberfroid MB** (1995) Dietary modulation of the human colonic microbiota; introducing the concept of prebiotics. J. Nutr. 125:1401-1412.
- Han BJ, Woo SK, Shin HK** (1995) Effects of the water extract of *Akebia(Akebia quinata* Decaisne) on the growth of *Clostridium perfringens* and some intestinal microorganisms. Korean J. Appl. Micro. Biotech. 23:633-640.
- Kang SK, Park SJ, Lee JD** (2000) Physiological effects of Levanoligosaccharide on growth of intestinal microflora. J. Korean Soc. Food Sci Nutr. 29:35-40.
- Kim JD** (2002) The growth inhibiting effect of enterobacteria, *Clostridium perfringens* KCTC 5014, by the combination of natural products. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 31:1119-1125.
- Kim JD, Kim MY, Seo HJ, Kim BJ, Kim DH, Kim EO, Chung HY, Kong JY** (2002) Combination of natural products removing ROS for growth promoting effects of the useful Enterobacteria, *Lacobacillus*. sp. Korean J. Microbiol. Biotech. 30:270-281.
- Kim JD, Shin TS** (2002) The growth promoting effect of *bifidobacterium bifidum* by combination of natural products bearing antioxidative capacity. Korean J. Microbiol. Biotech. 30:388-394.
- Lee HS, Jeon HJ, Lee SD** (2001) Effect of dietary mulberry leaf on the composition of intestinal microflora in SD rats. Korean J. Food Sci. Technol. 33:252-255.
- Lee HS, Kim SY, Jeon HJ, Lee SD** (2000) Growth inhibitory effect of *Clostridium perfringens* for Catechins separated from Mulberry leaf. Korean J. Seric. Sci. 42:6-9.
- Mitsuoka T** (1989) The intestinal flora and Biohomerostasis. Japan Scientific Societies Press., Tokyo.
- Smith LDS** (1979) Virulence factors of *Clostridium perfringens*. Reviews of Infections Diseases 1:254.
- 本間道, 光岡知足 (1979) 비피더스菌 (Bifidobacterium). 株式會社 야쿠르트., 東京., p. 134.
- 신현경 (1994) 산채류가 장내세균의 생육에 미치는 영향연구. 한국음식문화연구원 논총., 339-354.